



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

ESCUELA ACADÉMICA PROFESIONAL DE MEDICINA

TÍTULO

**EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL *Origanum vulgare*
“ORÉGANO” SOBRE *Haemophilus influenzae* ATCC 10211 COMPARADO
CON AMOXICILINA-ÁCIDO CLAVULÁNICO, ESTUDIO IN VITRO**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO
CIRUJANO**

AUTOR

ROSARIO SACRAMENTA OCHOA ASMAT

ASESORES

DRA. MARÍA ROCÍO DEL PILAR LLAQUE SÁNCHEZ

MG. BLGO. JAIME POLO GAMBOA

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN

ENFERMEDADES INFECCIOSAS Y TRANSMISIBLES

Trujillo – Perú

2019



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE MEDICINA

PÁGINA DEL JURADO

**EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL *Origanum vulgare* “ORÉGANO” SOBRE
Haemophilus influenzae ATCC 10211 COMPARADO CON AMOXICILINA-ÁCIDO
CLAVULÁNICO, ESTUDIO IN VITRO**

Dra. Ana María Chian García

PRESIDENTE DEL JURADO

Dra. María Rocío del Pilar Llaque Sánchez

SECRETARIO DEL JURADO

Mg. Blgo. Jaime Abelardo Polo Gamboa

VOCAL DEL JURADO

Trujillo, 25 de Febrero del 2019

DEDICATORIA

A mis padres, Edmundo Jorge Ochoa Calderón y Nila Rosario Asmat Asmad, por su paciencia y su amor. Gracias a su apoyo incondicional en todos estos años que gracias a ustedes que he logrado llegar hasta aquí y convertirme en lo que soy.

A mis hermanos, George Cristian Ochoa Asmat por estar a mi lado en los momentos que más lo necesitaba, a Jorge Felipe Ochoa Asmat (QEPD) quien me enseñó a ser perseverante para conseguir mis objetivos, y que desde el cielo me ilumina cada día.

A mi hija, Valeria Rosario Mendoza Ochoa por su cariño y comprensión incondicional, que aún a su corta edad ha demostrado, me sigue enseñando y ganándose mi cariño en cada momento de mi vida.

ROSARIO SACRAMENTA OCHOA ASMAT

AGRADECIMIENTO

A Dios, por la maravillosa oportunidad de vivir y por esta conmigo en cada paso que doy, por alentar mi corazón y ayudarme a salir adelante a pesar de las dificultades, además de haber colocado a personas que han sido mi soporte durante el transcurso de mi vida.

A los asesores, por su paciencia, entrega y valiosos consejos que me permitieron alcanzar los objetivos de esta tesis, y guiarme en el camino al realizar este proyecto.

A la Universidad César Vallejo, institución que me brindó la oportunidad de realizar mis estudios académicos, recibiendo siempre las facilidades para concluir de manera exitosa mi profesión.

ROSARIO SACRAMENTA OCHOA ASMAT

DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD

Yo, ROSARIO SACRAMENTA OCHOA ASMAT con DNI 70803249, estudiante de la Escuela Profesional de Medicina Humana de la Facultad de Ciencias Médicas, a efecto de cumplir con las disposiciones vigentes consideradas en el Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo, declaro bajo juramento que todos los datos e información que acompañan a la Tesis titulada: **EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL *Origanum vulgare* "ORÉGANO" SOBRE *Haemophilus influenzae* ATCC 10211 COMPARADO CON AMOXICILINA-ÁCIDO CLAVULÁNICO, ESTUDIO IN VITRO**, son:

1. De mi autoría.
2. He respetado las normas internacionales de citas y referencias para las fuentes consultadas; por tanto, la tesis no ha sido plagiada ni total ni parcialmente.
3. La tesis no ha sido auto plagiada; es decir, no ha sido publicada ni presentada anteriormente para obtener algún grado académico previo o título profesional.
4. Los datos presentados en los resultados son reales, no han sido falseados, ni duplicados ni copiados y por lo tanto los resultados que se presenten en la tesis se constituirán en aportes a la realidad investigada.

En tal sentido asumo la responsabilidad que corresponda ante cualquier falsedad, ocultamiento u omisión tanto de los documentos como de información aportada por lo cual me someto a lo dispuesto en las normas académicas vigentes de la Universidad César Vallejo.

ROSARIO SACRAMENTA OCHOA ASMAT

DNI: 70803249

Trujillo, 25 de Febrero del 2019.

PRESENTACIÓN

Señores miembros del Jurado:

En cumplimiento del Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo presento ante ustedes la Tesis titulada: **EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL *Origanum vulgare* “ORÉGANO” SOBRE *Haemophilus influenzae* ATCC 10211 COMPARADO CON AMOXICILINA-ÁCIDO CLAVULÁNICO, ESTUDIO IN VITRO** la misma que someto a vuestra consideración y espero que cumpla con los requisitos de aprobación para obtener el título Profesional de Médico Cirujano.

ROSARIO SACRAMENTA OCHOA ASMAT

Índice

PÁGINA DEL JURADO	i
DEDICATORIA.....	ii
AGRADECIMIENTO.....	iii
DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD	iv
PRESENTACIÓN	v
RESUMEN.....	vii
ABSTRACT	viii
I. INTRODUCCIÓN	1
1.1. REALIDAD PROBLEMÁTICA	1
1.2. TRABAJOS PREVIOS.....	2
1.3. TEORÍAS RELACIONADAS AL TEMA.....	4
1.4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	6
1.5. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO	6
1.6. HIPÓTESIS	6
1.7. OBJETIVOS	7
II. METODOLOGÍA.....	8
2.3. POBLACIÓN Y MUESTRA.....	10
2.4 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS, VALIDEZ Y CONFIABILIDAD....	11
2.5. MÉTODOS DE ANÁLISIS DE DATOS	12
2.6. ASPECTOS ÉTICOS:.....	12
III. RESULTADOS.....	13
IV. DISCUSIÓN	17
V. CONCLUSIONES.....	19
VI. RECOMENDACIONES	20
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	21
ANEXOS.....	23

RESUMEN

En el presente estudio se determinó si el aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare* “orégano” tuvo efecto antibacteriano sobre cepas de *Haemophilus influenzae* (ATCC 10211) comparado con amoxicilina – ácido clavulánico a 20 µg en un estudio in vitro. Se realizaron 4 diluciones (100%, 75%, 50% y 25%) comparándose con amoxicilina – ácido clavulánico 20 µg/10 µg y un control neutro con DMSO; se realizaron 10 repeticiones por cada grupo de estudio, donde se evidenció que el aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano” mostró halos de inhibición al 100% 17.10 mm DE: 7.38 ± 2.33 , IC 95% [16.57-17.63] , sin embargo no superó el halo de inhibición en relación a amoxicilina – ácido clavulánico de 22.50 mm DE: 0.85 ± 2.69 IC 95% [21.89 – 23.11] . Se obtuvo también halos inhibitorios del 75%: 12mm no siendo mayor que el patrón dado por el CLSI (≥ 20 mm). El análisis multivariado ANOVA fue altamente significativa 0.000 ($p < 0.001$). Se observa que, a mayor concentración, el halo inhibitorio aumenta. Concluyéndose, que el aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare* “orégano” si tiene efecto antibacteriano pero menor que la amoxicilina – ácido clavulánico, pudiendo utilizarse como un medicamento coadyuvante en el tratamiento de *Haemophilus influenzae* ATC 10211.

Palabras claves: Efecto antibacteriano, *Origanum vulgare*, *Haemophilus influenzae*

ABSTRACT

This research determined whether essential oil of *Origanum vulgare* "oregano" leaves had antibacterial effect on strains of *Haemophilus influenzae* (ATCC 10211) compared with amoxicillin - clavulanic acid at 20 µg/10 µg in an in-vitro study. Four dilutions (100%, 75%, 50% and 25%) were made comparing amoxicillin - clavulanic acid 20 µg and a neutral control with DMSO; 10 repetitions were made for each study group, which showed that the essential oil of *Origanum vulgare* "oregano" had zones of inhibition at 100% 17.10 mm SD: 7.38±2.33 , CI 95%[16.57-17.63] , however this did not exceed the zone of inhibition of amoxicillin - clavulanic acid of 22.50 mm SD: 0.85 ± 2.69 CI 95% [21.89 - 23.11] . Zones of inhibition at 75% were also obtained, of 12mm, not being greater than the pattern given by CLSI (≥ 20mm). ANOVA multivariate analysis was highly significant 0.000 (p<0.001). It is observed that the greater the concentration, the bigger the zone of inhibition. In conclusion, essential oil of *Origanum vulgare* "oregano" leaves has antibacterial effect but less than amoxicillin - clavulanic acid, and can be used as an adjunct drug in the treatment of *Haemophilus influenzae* ATCC 10211.

Keywords: Antibacterial effect, *Origanum vulgare*, *Haemophilus influenzae*

I. INTRODUCCIÓN

1.1. REALIDAD PROBLEMÁTICA

Las infecciones respiratorias agudas son un grupo de enfermedades altamente infecciosas que son causadas por virus, bacterias y hongos, que al no identificarse de manera oportuna pueden complicarse, siendo la forma más grave, la neumonía, que es la principal causa de muerte en niños y adultos mayores en todo el mundo, teniendo una mayor incidencia en el sexo masculino, entre otros factores como bajo peso al nacer, inmadurez inmunológica, prematuros, hacinamiento; contribuyendo a la morbi-mortalidad. Según la Organización Mundial de la Salud, las infecciones respiratorias agudas son las que ocasionan la muerte de 4,3 millones de niños menores de 5 años; teniendo como agentes etiológicos principales: *Streptococcus pneumoniae* como causa más común y el *Haemophilus influenzae* tipo b como segunda causa más común de neumonía bacteriana.¹

En el Perú, la neumonía es la causa principal de muerte en niños menores de 5 años, y demanda de atención, tres de cada cuatro consultas médicas son infecciones respiratorias agudas, con mayor frecuencia entre abril a agosto por ser temporadas de temperaturas bajas. La mayoría de los episodios son leves y auto limitados, como en los resfriados, sin embargo; uno de cada 30 episodios provocará complicaciones de los cuales el 10% al 20% de los niños afectados mueren por esta causa. Los agentes más frecuentes aislados en neumonía fueron *S. pneumoniae* (1.5%), y *H. influenzae* (0.8%). La Dirección General de Epidemiología, en el año 2018, notificaron 18,894 casos de neumonía (35,2%), el cual es mayor a lo reportado el año 2017 en el mismo periodo. El departamento de Puno presenta la tasa de incidencia más elevada (92,5/10000 menores de 5 años), seguido de Apurímac, Tacna, Lambayeque y La libertad. La morbi-mortalidad sigue siendo alta a la actualidad en los países en desarrollo, como en el caso específico del Perú, lo cual significa un gran problema de salud latente que afecta principalmente a la población pediátrica menor de 5 años, y a los adultos mayores.²

Así mismo también, la Dirección General de Epidemiología del ministerio de Salud, año 2017, el departamento de La libertad en lo que va de dicho año se ha registrado 257 casos de neumonía y 4 fallecidos, a consecuencia de bajas temperaturas en las zonas alto andinas, incrementando en 33 casos de neumonía en comparación con el año 2016. Además reporta que hay más de 7 mil casos de infecciones respiratorias agudas han sido atendidos en centro hospitalarios de la región.³

1.2. TRABAJOS PREVIOS

Solarte, A. (Córdoba, 2015) refiere que los aceites de orégano, en todas las pruebas mostraron una actividad antimicrobiana mayor frente a *Salmonella Typhimurium*, con halos de inhibición > 19 mm, destacando el orégano ($20,60 \pm 1,97$) con una capacidad para destruir e inhibir las cepas de *S. Typhimurium* en base a su capacidad inhibitoria mínima y las mínimas bactericidas, en un 50% a una concentración del 0,03%; y en un 90% de las cepas al 0,06%, considerando a este aceite como una buena alternativa.⁴

Bastos, O, et al. (Cuba, 2011) Mediante la concentración bactericida mínima del aceite esencial de *Origanum Vulgare* frente 71 bacterias que fueron aisladas de leche bovina, de los géneros, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Corybacterium*, y 3 cepas de *Pseudomona aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. Comprobaron la actividad in vitro del aceite, frente bacterias Gram positivas y sobre bacterias Gram negativas, resultando ser más eficaz para *Escherichia coli* con 0,35% de CBM, con un halo de inhibición de $29,5 \pm 3,4$ mm, pero no presentó efecto para *Pseudomona aeruginosa* teniendo como concentración inhibitoria mínima de 12%.⁵

Garay, M.(Perú,2015) evaluó el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. “orégano” a las concentraciones de 10%, 50% y 100% sobre cepas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, observándose que la concentración al 100% del aceite esencial presentó un mayor halo de inhibición de 30mm y 41mm correspondientemente dándonos a conocer que este aceite presentaría un efecto bacteriostático sobre bacterias Gram negativas, y que cumpliría un efecto bacteriostático sobre bacterias Gram positivas, con una diferencia estadística $p < 0.05$ lo que hace el resultado altamente significativo.⁶

Maravía, G. (Perú, 2012) Determinó el efecto anti fúngico y antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Origanum vulgare* sobre *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus acidophilus* y *Candida albicans*, el aceite esencial del orégano al 100 % obtuvo un promedio de los halos de inhibición de $25,72 \pm 1,99$ mm; y el aceite esencial de orégano al 50 % de $8,53 \pm 1,10$ mm. Al hacer la comparación de los halos de inhibición de las dos concentraciones experimentales (50% y 100 %) frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175 donde se observó que tenían diferencias estadísticamente significativas de $p < 0,001$.⁷

Chávez, T, et al (Perú, 2008) determinaron el efecto sinérgico antibacteriano del aceite esencial de *Origanum vulgare* y Gentamicina frente a cultivos que fueron aislados como la *Escherichia Coli*. Se observó el efecto sinérgico entre el orégano y la Gentamicina; el grupo experimental, tuvo un mayor halo de inhibición (22,375 mm); mientras que el grupo control compuesto por solo Gentamicina obtuvo un halo de inhibición de 20,75 mm. La prueba t determinó que la diferencia era estadísticamente significativa $p=0,001$.⁸

1.3. TEORÍAS RELACIONADAS AL TEMA

H.influenzae es un patógeno importante en el ser humano, son bacilos cocoides Gram negativos cortos (1,5 um) que a veces se encuentran en forma de hilos largos y filamentos con pleomorfismo marcado formando en diferentes ocasiones cadenas pequeñas. Son no esporulados, inmóviles, aerobios y anaerobios facultativos. Es de manera importante la capacidad metabólica para fermentar carbohidratos como: glucosa, sacarosa y xilosa teniendo como resultado final: ácido láctico, acético y succínico; además produce ureasa y triptofanasa pero no produce gas.⁹

H.influenzae encapsulados, causan la mayor parte de infecciones invasivas, las cepas no capsuladas son parte de la microflora normal de las vías respiratorias altas en individuos sanos. La cápsula es uno de los componentes de este microorganismo que más se estudia, siendo el determinante de su patogenicidad y el inductor de formación de anticuerpos específicos. Está compuesta de polisacáridos, teniendo la especificidad serológica de tipo en su estructura, tomando como base a seis tipos (de la "a", a la "f"); siendo el de tipo b es el más común entre todas las cepas aisladas en los diferentes casos de infecciones invasivas en un 95%.¹⁰

El antígeno capsular de tipo b es un fosfato de polirribosa-ribitol a diferencia de las cepas de otros serotipos que el polisacárido tiene como compuesto básico a una hexosa, alguna hexosamina o un grupo fosfato. Los componentes de la capsula brindan una especificidad inmunitaria diferencial de los serotipos, que es una propiedad importante y de mucha utilidad para identificar sobre todo al serotipo b, que es el más aislado en infecciones invasivas graves y así poder diferenciarlo de los demás serotipos mediante la utilización de antisueros capsulares específicos.¹⁰

El orégano silvestre (*Origanum vulgare*), pertenece a la familia Lamiaceae, al que también pertenecen el romero, menta y tomillo. Planta con tallos de hasta 1 metro de altura, leñosa en la base y generalmente ramificados en la parte superior; las hojas pecioladas, ovaladas, enteras generalmente pilosas sobre todo por abajo y con su superficie punteada por algunas glándulas esferoidales que contienen escénicas. Las flores dispuestas en inflorescencias esféricas con brácteas de color púrpura-violáceo. Presenta también un cáliz punteado de glándulas amarillas; su corola con el labio superior entero o escotado y el labio inferior trilobulado, blanca o rojo-púrpura, el androceo está formado por 4 estambres fértiles, con sus filamentos divergentes.¹¹

La planta en su totalidad tiene aceite esencial (1.8%), glucósidos saponínicos, taninos, triterpenos, celulosa, pigmentos y elementos minerales. La corteza y la raíz tienen glicósidos saponínicos, aceite esencial y taninos. Las hojas contienen flavonas y lapachenol. El aceite esencial contiene más de 34 compuestos activos dentro de los cuales están los fenoles (timol en un 64% y carvacrol 80%), hidrocarburos monoterpénicos (limoneno, α y β -pineno, p-cimeno); sesquiterpénicos (cariofileno y bisaboleno); linalol y terpinen-4-ol y al menos 34 elementos en cantidades menores, siendo los fenoles carvacrol y timol los que poseen los niveles más altos de actividad contra microorganismo Gram negativos, excepto para *Pseudomonas aeruginosa*.¹²

Los aceites esenciales son mezclas naturales complejas que pueden contener hasta 60 componentes de concentraciones diferentes, pero se caracterizan por dos o tres componentes que tienen concentraciones altas (20-70%) en comparaciones con los otros componentes. Las propiedades biológicas son determinadas por los componentes mayoritarios que constituyen hasta más del 85%.¹²

El interés actual en las sustancias que componen la planta original ha llevado a la búsqueda e identificación de principios activos y de esa manera establecer nuevas opciones de tratamiento frente a la resistencia de las bacterias y hongos a los remedios farmacológicos, especialmente los antibióticos. El efecto bactericida de los aceites esenciales es su hidrofobicidad, que permite la separación de los lípidos de membrana y la mitocondria, presentando una permeabilidad aumentada de protones e iones en la membrana celular, para que así la célula pierda su integridad interviniendo en los elementos celulares esenciales como el ATP y ácidos nucleicos, haciendo que estos sean removidos provocando una disminución en la carga celular total¹²

La amoxicilina-ácido clavulánico es una aminopenicilina que presenta una amplia actividad bactericida contra microorganismos Gram negativos y Gram positivos, tiene su mecanismo de acción en la última etapa de la biosíntesis de los peptidoglucanos (transpeptidación), que es la capa esencial para la supervivencia para las bacterias, donde el daño se produce por la pérdida de la rigidez de la célula bacteriana que puede causar la muerte; por lo que es considerada como agente bactericida que solo actúa en la fase de crecimiento celular.¹³

1.4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿El aceite esencial de las hojas *Origanum vulgare* “orégano” tiene efecto antibacteriano sobre cepas *Haemophilus influenzae* (ATCC 10211) comparado con amoxicilina-ácido clavulánico a 20 µg/10 µg en un estudio in vitro?

1.5. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

El presente trabajo tiene gran importancia educativa experimental dentro de la práctica médica y además que puede aportar nuevos conocimientos científicos sobre las propiedades antibacterianas del aceite esencial que son obtenidas de las fuentes que son plantas medicinales como tenemos al *Origanum vulgare* “orégano”, generando una variedad de productos farmacéuticos de origen natural y que la población de bajos recursos económicos tenga acceso a menor costo, las que podrían ser utilizadas como alternativa de prevención y tratamiento para las patologías más frecuentes provocadas por *Haemophilus influenzae* (ATCC 10211) como generalmente la neumonía; además de mejorar la eficacia terapéutica ofrecidos por medicamentos antimicrobianos tradicionales como es el caso de la amoxicilina-ácido clavulánico.

1.6. HIPÓTESIS

H1: El aceite esencial de las hojas *Origanum vulgare* “orégano” tiene efecto antibacteriano sobre cepas *Haemophilus influenzae* ATCC 10211 comparado con amoxicilina-ácido clavulánico a 20 µg/10 µg, en un estudio in vitro

H0: El aceite esencial de las hojas *Origanum vulgare* “orégano” no tiene efecto antibacteriano sobre *Haemophilus influenzae* ATCC 10211 comparado con amoxicilina-ácido clavulánico a 20 µg/10 µg, en un estudio in vitro.

1.7. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

- Evaluar si el aceite esencial de las hojas *Origanum vulgare* “orégano” tiene efecto antibacteriano sobre cepas de *Haemophilus influenzae* (ATCC 10211) comparado con amoxicilina-ácido clavulánico a 20 µg/10 µg, en un estudio in vitro.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Se determinó el efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas *Origanum vulgare* al 100%.
- Se determinó el efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas *Origanum vulgare* al 75%.
- Se determinó el efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas *Origanum vulgare* al 50%.
- Se determinó el efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas *Origanum vulgare* al 25%.
- Se determinó el efecto antibacteriano de la amoxicilina-ácido clavulánico a 20µg/10 µg.

II. METODOLOGÍA

2.1. DISEÑO DE INVESTIGACIÓN Y TIPO DE INVESTIGACIÓN:

TIPO DE INVESTIGACIÓN: Básico

DISEÑO DE INVESTIGACION: Experimental con repeticiones múltiples, post prueba.

RG1	X1	O1
RG2	X2	O2
RG3	X3	O3
RG4	X4	O4
RG5	X5	O5
RG6	X6	O6

Donde:

RG1-G5: cultivos con cepas de *Haemophilus influenzae*

X1: aceite esencial *Origanum Vulgare* al 100%

X2: aceite esencial *Origanum Vulgare* al 75%

X3: aceite esencial *Origanum Vulgare* al 50%

X4: aceite esencial *Origanum Vulgare* al 25%

X5: CONTROL POSITIVO: amoxicilina-ácido clavulánico a 20 µg/10 µg.

X6: CONTROL NEGATIVO: Suero fisiológico

O: Las observaciones del halo de inhibición.

2.2. VARIABLES Y OPERALIZACIÓN

Variable Independiente: Agente antibacteriano

- a) No farmacológico: Aceite esencial de la hoja *Origanum Vulgare* “Orégano”
- b) Farmacológico: Amoxicilina-ácido clavulánico a 20 µg/10 µg.

Variable Dependiente: efecto antibacteriano del aceite esencial *Origanum vulgare*

- a) Eficacia: Aumento del halo de inhibición: $\geq 20\text{mm}$
- b) No eficaz: Disminución del halo de inhibición: $\leq 19\text{mm}$

OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES:

VARIABLE	DEFINICION CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN
V. I: Agente antibacteriano	Sustancias experimentales: líquidos aplicados en las placas de agar.	La población se dividió en los siguientes grupos: a) Aceite al 100% b) Aceite al 75% c) Aceite al 50% d) Aceite al 25% e) Amoxicilina-ácido clavulánico f) Suero fisiológico	RG1 RG2 RG3 RG4 RG5 RG6	Cualitativa nominal
V. D: Efecto antibacteriano	Tamaño del halo de inhibición formado alrededor del disco	Se consideró: a) Sensible: $\geq 20\text{mm}$ b) Resistente: $\leq 19\text{mm}$	Eficaz $\geq 20\text{mm}$ No eficaz $\leq 19\text{mm}$	Cualitativa nominal

2.3. POBLACIÓN Y MUESTRA

POBLACIÓN: La población estuvo constituida por el conjunto de colonias de las cepas de *Haemophilus influenzae* (ATCC 10211) cultivadas en las placas Petri estudiadas en el laboratorio de Microbiología de la Escuela de Medicina de la Universidad César Vallejo.¹⁵

MUESTRA:

Tamaño de muestra: Para obtener la muestra se aplicó la siguiente fórmula para diferencia de dos proporciones. Se obtuvo la muestra de 10 repeticiones por cada grupo de experimentación.¹⁴ (Ver anexo 01). Se realizaron 60 observaciones.

Unidad de análisis: Cada colonia de cepas de *Haemophilus influenzae* (ATCC 10211) cultivada en la placa Petri

Unidad de muestra: Cada placa Petri con cepas de *Haemophilus influenzae* (ATCC 10211).

Muestreo: Fue aleatorio simple en cada grupo de observación

CRITERIOS DE SELECCIÓN:

Criterios de inclusión:

- Placas que contengan los cultivos de la bacteria *Haemophilus influenzae* ATCC 10211, con mínimo 18 horas de crecimiento.

Criterios de exclusión:

- Se excluyó las placas contaminadas.
- Se excluyó cultivos donde no se evidenció crecimiento en el medio de cultivo.

2.4 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS, VALIDEZ Y CONFIABILIDAD

LA TÉCNICA: Consistió en la observación del crecimiento bacteriano en las placas Petri de cultivo en estudio.

EL PROCEDIMIENTO: El experimento tuvo los siguientes pasos: (Ver Anexo 02)

- a. Certificación de la planta *Origanum vulgare* “orégano” por el Laboratorio de biología de la Universidad Particular Antenor Orrego – HAO.
- b. La obtención del principio activo (aceite esencial) *Origanum vulgare* (orégano) mediante el método de destilación por arrastre de vapor de agua¹⁴
- c. Técnica de cultivo según el método de disco Dilución¹⁴
- d. Prueba de sensibilidad ¹⁴

INSTRUMENTO: Se utilizó, la ficha de recolección de los datos donde se anotaron el número de placas, diluciones y las observaciones de los halos de inhibición (mm) a las 48 horas.¹⁴ (Ver Anexo 03)

VALIDACIÓN Y CONFIABILIDAD DEL INSTRUMENTO

El instrumento fue validado por opinión de tres profesionales (médico y biólogo), quienes analizaron las variables de estudio y los ítems considerados en la ficha de recolección de datos fueran relevantes para el estudio y tuvieran claridad, objetividad, actualidad, organización, suficiencia, intencionalidad, consistencia, coherencia, metodología y oportunidad para su aplicación. (Ver anexo 04)

2.5. MÉTODOS DE ANÁLISIS DE DATOS

Los datos de los halos de inhibición (mm) de los cultivos fueron analizados en el programa SPSS 25 versión de Windows. Se aplicó las pruebas estadísticas de análisis de varianza unidireccional (ANOVA) y post ANOVA Tukey; para precisar las similitudes significativas de cada diseño experimental en relación del grupo control.

2.6. ASPECTOS ÉTICOS:

Para garantizar una atención apropiada de los elementos que podrían perjudicar el medioambiente, se tuvo presente el adecuado manejo de los procedimientos propios del experimento y la eliminación de los desechos obtenidas de las muestras especialmente de la cepa de *Haemophilus influenzae* ATCC 10211, según las normas del manual de Bioseguridad¹⁶ en Laboratorios de Microbiología y Medicina durante el transcurso del desarrollo del trabajo de investigación.

La autorización fue dada por el comité permanente de investigación de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad César Vallejo, se consideró también los principios de la declaración de Helsinki de la asociación mundial, 64^{ava} Asamblea general¹⁷ y los reglamentos descritos del Ministerio de Salud del Perú (MINSA).¹⁶

III. RESULTADOS

Tabla 01: Efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas *Origanum vulgare* “orégano” sobre *Haemophilus influenzae* ATCC 10211 comparado con amoxicilina-ácido clavulánico, estudio in vitro.

DATOS DESCRIPTIVOS

Tratamiento	N	Media	95% del intervalo de confianza para la media					
			Desv.	Desv.	Límite	Límite	Mínimo	Máximo
			Desviación	Error	inferior	superior		
100%	10	17.10	0.738	0.233	16.57	17.63	16	18
75%	10	12.00	0.667	0.211	11.52	12.48	11	13
50%	10	1.90	3.071	0.971	-0.30	4.10	0	7
25%	10	0.00	0.000	0.000	0.00	0.00	0	0
amoxicilina - ácido clavulánico	10	22.50	0.850	0.269	21.89	23.11	21	23

Fuente: Reporte de resultados SPSS ver.25

Tabla 2: Efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas *Origanum vulgare* “orégano” sobre *Haemophilus influenzae* ATCC 10211 comparado con amoxicilina-ácido clavulánico, estudio in vitro.

ANOVA

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	3738,200	4	934,550	419,290	0,000
Dentro de grupos	100,300	45	2,229		
Total	3838,500	49			

p : 0.000

Fuente: Reporte de resultados SPSS ver.25

Tabla 3: Efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas *Origanum vulgare* “orégano” sobre *Haemophilus influenzae* ATCC 10211 comparado con amoxicilina-ácido clavulánico, estudio in vitro.

Prueba Post Hoc

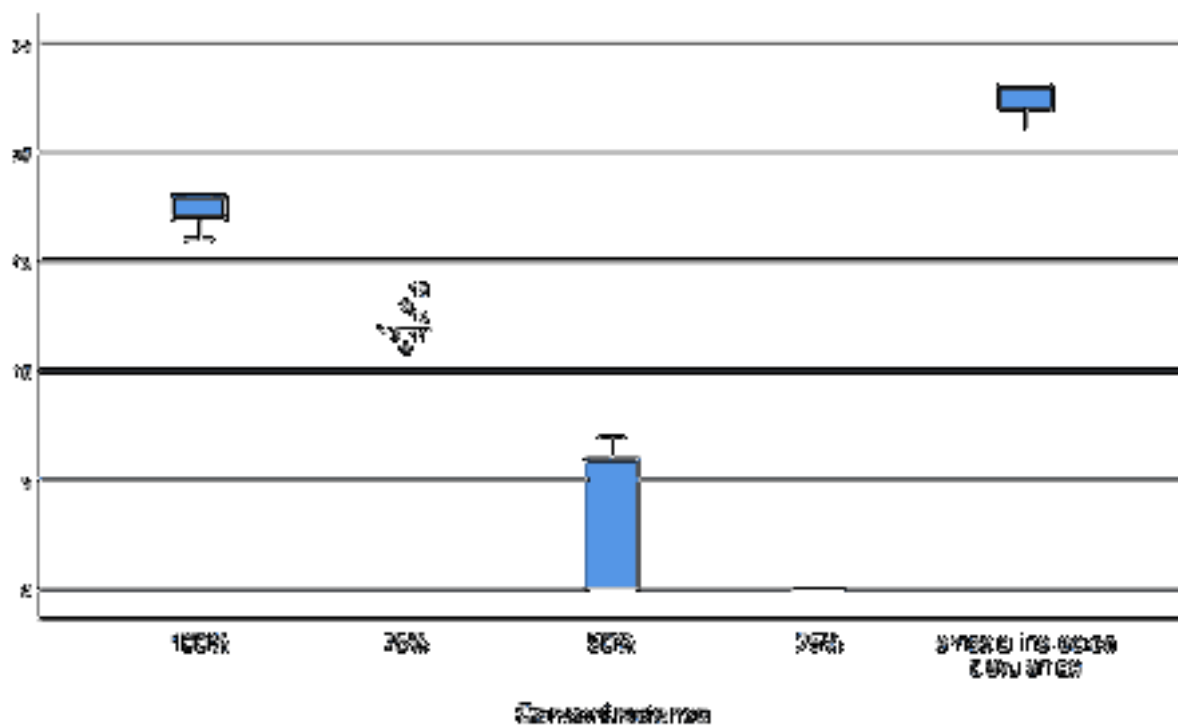
HSD Tukey^a

Concentraciones	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
25%	10	0,00				
50%	10		1,90			
75%	10			12,00		
100%	10				17,10	
amoxicilina-ácido clavulánico	10					22,50
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 10,000.

Fuente: Reporte de resultados SPSS ver.25



Fuente: Reporte de resultados SPSS ver.25

Gráfico 1: Efecto antibacteriano del aceite esencial *Origanum vulgare* “orégano” sobre *Haemophilus influenzae* ATCC 10211 comparado con amoxicilina-ácido clavulánico, estudio in vitro.

IV. DISCUSIÓN

En el presente estudio se evaluó el efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas *Origanum vulgare* “orégano” sobre cepas *Haemophilus influenzae* ATCC 10211 en dilución de 100%, 75%, 50% y 25% comparado con amoxicilina-ácido clavulánico 20µg/10 µg, observándose 10 placas por grupo con un total de 60 cultivos, se obtuvieron los siguientes resultados:

Se obtuvo: **Tabla Nº 1** muestra los datos descriptivos de todos los grupos estudiados, las medias de los halos de inhibición del extracto del aceite esencial de la hoja de *Origanum vulgare* muestran halos de inhibición a las diluciones de 75 y 100% siendo mayor en esta última (media: 17.10 mm DE 7.38±2.33 IC 95% [16.57-17.63] , un valor mínimo de 16 y un valor máximo de 18, al 75% el halo de inhibición es menor 12mm evidenciando que si bien a estas diluciones existe un efecto inhibitorio se considera no eficaz (resistente) según los criterios del CLSI ($\geq 20\text{mm}$)¹⁴ y en relación a amoxicilina – ácido clavulánico muestra un halo de inhibición de 22.50mm DE 0.85 ± 2.69 IC 95% [21.89 – 23.11] con un valor mínimo de 21mm y máximo de 23 mm siendo en este caso su efecto inhibitorio un poco mayor.

En la **tabla Nº2** en relación al análisis de los resultados mediante la prueba estadística de varianza ANOVA: 0.000 p :0.000 evidencia que los resultados del experimento son altamente significativos.

En la **tabla Nº3** al hacer el análisis de homogeneidad de TUKEY o POST ANOVA se puede visualizar efecto antibacteriano a partir de 75% de dilución aumentando al 100% sin embargo son menores los halos de inhibición que los de amoxicilina – ácido clavulánico, además se visualizan que los grupos ha sido homogéneos a menor concentración, las concentraciones de 25, 50% no evidenciaron tener efecto inhibitorio, los resultados son evidenciados en el **Gráfico Nº1** se muestra un diagrama de cajas y bigotes donde se comparan las medias de los extractos del *Origanum vulgare* con amoxicilina – ácido clavulánico evidenciando nuevamente que a mayor concentración el producto tiene mayor efecto inhibitorio (100%) sin embargo con el tratamiento estándar la inhibición es mayor.

En relación a estudios que evaluaron el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Origanum vulgare* sobre *Haemophilus influenzae*, que es un Gram negativo, no se encontraron estudios similares, sin embargo, podríamos transpolar el estudio de otros autores que han realizado sus experimentos con bacterias de la misma familia. Así, Bastos O, et al.⁶ al evaluar el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Origanum vulgare* frente a bacterias Gram positivas y sobre bacterias Gram negativas, en especial para *Escherichia coli* con un 0,35% de CBM, encuentra un halo de inhibición de $29,5 \pm 3,4$ mm.

Maravía G.⁷ a la concentración del 50 % se obtuvo $8,53 \pm 1,10$ mm, sin embargo, a concentraciones mayores como al 100% tuvo halos de inhibición de $25,72 \pm 1,99$ mm sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 donde se evidenció que hubo efecto antibacteriano. En todos los estudios revisados el aceite esencial ha mostrado tener efecto antibacteriano sobre las Gram negativas, siendo el timol y carvacrol los principales componentes del *Origanum vulgare* “orégano”, teniendo como efecto bactericida su hidrofobicidad, permitiendo la desintegración de la membrana celular externa y por consiguiente permite la salida de elementos celulares como el ATP y ácidos nucleicos, así también Chávez T, et al.⁸ estudiaron el efecto sinérgico antibacteriano del aceite esencial de *Origanum vulgare* con Gentamicina, donde se evidenció halos de inhibición fue 22,375 mm frente a cultivos aislados como *Escherichia coli*.

Los resultados de esta investigación son de mucha importancia ya que contribuyen en la práctica médica y científica sobre las propiedades antibacterianas del aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano”, que podría ayudar a la formulación de productos farmacéuticos de origen natural , para que la población de bajos recursos económicos pueda tener mayor acceso como alternativa de prevención y tratamiento de patologías más frecuentes que son provocadas por *Haemophilus influenzae* (ATCC 10211) en enfermedades respiratorias agudas como es la neumonía.

V. CONCLUSIONES

- El aceite esencial de las hojas *Origanum vulgare* evidenció poco efecto antibacteriano sobre *Haemophilus influenzae* ATC 10211, a mayores concentraciones, sin embargo, fue menor en relación a lo observado por la amoxicilina – ácido clavulánico, según los criterios de eficacia del CLSI (>20mm)
- El aceite esencial de las hojas *Origanum vulgare* al 100%, presentó halo de inhibición de 17.10 mm
- A la concentración de 75%, presentó un halo de inhibición de 12 mm
- A la concentración de 50%, presentó un halo de inhibición de 1.90 mm
- A la concentración de 25%, no presentó un halo de inhibición
- La amoxicilina – ácido clavulánico presentó mayor halo de inhibición de 22.50 mm

VI. RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar el experimento comparando el efecto antibacteriano del aceite esencial del genero de *Origanum* con otra bacteria Gram positiva, Gram negativa o/u hongos.
- Analizar la calidad y cantidad de los aceites esenciales de las hojas del *Origanum vulgare* con diversas temporadas de extracción.
- Ampliar el estudio con animales de experimentación vivos para evaluar la respuesta del aceite esencial en condiciones naturales al aplicar a seres vivos.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Moreno P,D, et.al.Etiología y diagnóstico de la neumonía adquirida en la comunidad y sus formas complicadas. Anales de Pediatría.España.2012;76(3);162 (citado: 19/08/2018)
2. Ministerio de Salud.Boletín Epidemiológico del Perú. 2018 (SE16). (citado : 19/09/2018). Disponible en <http://www.dge.gob.pe/portal/docs/vigilancia/boletines/2018/16.pdf>
3. Ministerio de Salud..Centro Nacional de Epidemiología, Prevención y Control de Enfermedades. 2017 (SE20). (citado : 19/08/2018). Disponible en <http://www.dge.gob.pe/portal/docs/vigilancia/sala/2017/SE20/neumonias.pdf>
4. Solarte P, Ana. Aplicación de aceites esenciales para el control de Salmonella Typhimurium aislada de casos clínico en diferentes especies animales.[Tesis Máster].Córdoba.Universidad De Cordoba;2015 (citado: 19/08/2018)
5. Bastos O, Marta, et.al. Actividad antimicrobiana del aceite esencial de origanum vulgareL. ante bacterias aisladas en leche de bovino. Cuba.2011;16(3):260-266 (citado:19/08/2017) disponible en: <http://scielo.sld.cu>
6. Garay M, H. Efecto antibacteriano del aceite esencial de Origanum vulgare L. “orégano” sobre cepas de Escherichia coli y Staphylococcus aureus.[tesis maestria].Perú.Universidad Nacional de Cajarmaca;2015.(citado:21/10/2018)
- 7.Muñiz I, G . Efecto antibacteriano y antifúngico del aceite esencial de Mentha piperita (menta), Origanum vulgare (orégano) y Cymbopogon citratus (hierba luisa) sobre Streptococcus mutans ATCC 25175, Lactobacillus acidophilus ATCC 10746 y Candida albicans ATCC 90028.[Tesis bachiller].Perú.Universidad Wiener;2012. (citado:19/08/2018)
8. Chavez T, Luis, et.al. Efecto sinérgico del aceite esencial de Origanum vulgare a la Gentamicina en cultivos de Escherichia coli.Lima,Perú.2008;13:45-48 (citado 19/08/2017)
9. Patrick RM , Ken SR , Michael AP. Microbiología médica. 6° ed. México: Elseiver;2012. P 896-998 (citado:19/08/2018)
10. Brooks, Geo F, Carroll, Karen C, Morse, Stephen A, Mietzner, Timothy A.Microbiología Médica. Mc Graw Hill.25° ed. (citado:19/08/2018)

11. Villavicencio G, Eulalia E, Cano P, Antonio, García C, Xavier. Metodología para determinar las existencias del orégano en rodales naturales de Parras de la Fuente. México; 2010. (citado: 19/08/2017)
12. Martha VL, Oscar VV. Manual de Fitoterapia. Lima: Essalud. 2001 (citado: 19/08/2017)
13. Brunton Laurence L., Lazo John S., Parker Keith L. Goodman y Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 12ª ed. McGraw-Hill; 2011. p 783
14. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 26th ed. CLSI Supplement M100S. 19087 USA, 2016. [citado: 23 de Agosto de 2017]. Disponible en: <http://ljzx.cqrmhospital.com/upfiles/201601/20160112155335884.pdf>
15. Ministerio de Salud del Perú. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión. Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud, 2002. p20-22 (citado: 19/10/2017). Disponible en: <http://www.ins.gob.pe/repositorioaps/0/4/jer/1/manua%20sensibilidad.pdf>
16. Sistema de Gestión de la Calidad del Pronahebas, Ministerio de Salud (MINSA). Manual de Bioseguridad: Programa Nacional de Hemoterapia y Bancos de Sangre, 2004. norma técnica N° 015 - MINSA / DGSP - V.01. 2004. Perú. (citado: 19/10/2017). Disponible en: <http://www.minsa.gob.pe/dgsp/observatorio/documentos/infecciones/manual%20de%20bioseguridad.pdf>
17. Principios éticos para investigaciones médicas en seres humanos. 18ª Asamblea médica mundial, Helsinki. Finlandia. Junio 1964. (citado: 19/10/2017). Disponible en: <http://www.isciii.es/ISCIII/es/contenidos/fd-investigacion/fd-evaluacion/fd-evaluacion-etica-investigacion/Declaracion-Helsinki-2013-Esp.pdf>

ANEXOS

ANEXO 1

$$n = \frac{(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 2\sigma^2}{(\bar{X}_1 - \bar{X}_2)^2}$$

Donde:

n: número de repeticiones a efectuar en cada investigación

$Z_{\alpha/2} = 1.96$ Para un nivel de confianza al 95%

$Z_{\beta} = 0.84$ Para una potencia de prueba al 80%

$\bar{X}_1: 0,594$ ⁸

$\bar{X}_2: 0.081$ ⁸

$n = 7$ (placas Petri mínimas)

Se aumentó a 10 placas para cada concentración

PROCEDIMIENTO

[illegible]

CERTIFICACIÓN DE LA PLANTA POR UNIVERSIDAD PRIVADA ANTONOR ORREGO



UPAO

Museo de Historia Natural y Cultural

HERBARIO ANTONOR ORREGO (HAO)

CONSTANCIA N° 62-2018-HAO-UPAO

El que suscribe, Director del Museo de Historia Natural y Cultural de la Universidad Privada Antenor Orrego, deja:

CONSTANCIA

Que **Rosario Sacramenta Ochoa Asmat**, estudiante de la carrera profesional de Medicina Humana de la Universidad César Vallejo, ha solicitado la determinación de material vegetal, el cual corresponde a la siguiente especie:

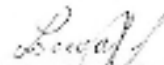
Origanum vulgare L. (Lamiaceae)

El mismo que será utilizado para el desarrollo de su tesis para optar el título profesional.

Se expide la presente constancia a solicitud del interesado para los fines que correspondan.

Trujillo, 14 de noviembre de 2018




Mg. Segundo Leiva González
Director
Museo de Historia Natural y Cultural

b) Obtención de la muestra:

Las plantas de *Origanum vulgare* “orégano” se colectó en la Provincia de Otuzco, Región La Libertad – Perú, en una cantidad aproximada de 1 kg y se llevó al laboratorio de Microbiología de la Universidad César Vallejo de Trujillo, donde se deshidrató dentro de una estufa a 40°C por 3-4 días. Después, se estrujaron las hojas secas hasta que se obtuvo partículas muy pequeñas y se reservaron almacenándolas herméticamente en recipientes oscuros. A esto se le consideró “muestra”.

c) Extracción del aceite esencial:

El aceite esencial de la hoja de *Origanum vulgare* “orégano” se obtuvo por el método de arrastre de vapor de agua. Para ello, se colocó 200 g de muestra en un balón de 1000 ml el cual recibió el vapor de agua que arrastró los componentes activos del orégano y se condensó para recepcionarlo en un embudo de decantación tipo pera para separar el aceite del agua. A partir de este aceite, se preparó 4 concentraciones (100%, 75%, 50% y 25%) utilizando como diluyente Dimetil Sulfóxido (DMSO). Después, se impregnarán en discos de papel filtro Whatman Nº 41, con las diferentes concentraciones de aceite esencial de orégano.

d) Prueba de susceptibilidad (Prueba de Disco difusión en agar)

Se evaluó la susceptibilidad antibacteriana de los extractos de orégano a diferentes concentraciones por medio del método de Kirby-Bauer de disco difusión en agar. Para ello, se consideraron los criterios del Clinical and Laboratory Standards Institute - CLSI de Estados Unidos de América. Se consideró los estándares M02-A11 y M100-S27.¹⁴

1.Preparación del inóculo

El inóculo se preparó colocando 3-4 ml de suero fisiológico en un tubo de ensayo estéril, al cual se le adicionó una alícuota de la cepa de *Haemophilus influenzae* ATCC 10211, cultivado hace 18-20 horas, de tal modo que se observó una turbidez equivalente al tubo 0,5 de la escala de McFarland ($1,5 \times 10^8$ UFC/ml aprox.)



2.Siembra del microorganismo

Se sembró la cepa de *Haemophilus influenzae* ATCC 10211, embebiendo un hisopo estéril en el inóculo y deslizándolo sobre toda la superficie del medio de cultivo en las Placas Petri (siembra por estrías en superficie); de tal modo, que el microorganismo quedó como una capa en toda la superficie



3. Preparación de las concentraciones del aceite esencial

A partir del AE, se prepararon 4 concentraciones (100%, 75%, 50% y 25%) utilizando como solvente Dimetil Sulfóxido (DMSO); para ello, se rotularon 4 tubos de ensayo de 13x100mm estériles con las 4 concentraciones y se colocó 750 μ L de AE y 250 μ L de DMSO al tubo de 75%, 500 μ L de AE y 500 μ L de DMSO al tubo de 50%, y 250 μ L de AE y 750 μ L de DMSO al tubo de 25%



4. Preparación de los discos de sensibilidad con AE

A partir de cada una de las concentraciones, se colocó 10 μ L en cada disco de papel filtro Whatman N° 1 de 6mm de diámetro, previamente esterilizados. Se tomó 10 μ L de AE al 25% y se colocó en un disco, 10 μ L de AE al 50% en otro disco, 10 μ L de AE al 75% en otro disco y 10 μ L de AE al 100% en otro disco. Esto se repitió por 10 veces



5. Confrontación del microorganismo con el agente antimicrobiano

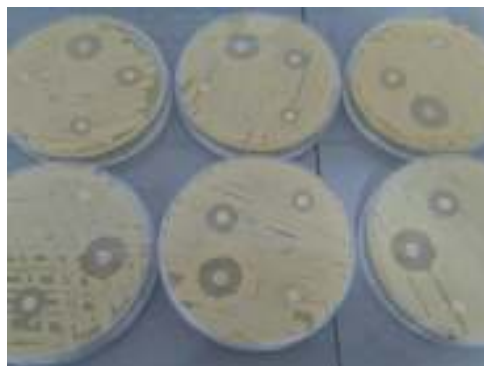
Con la ayuda de una pinza metálica estéril, se tomaron los discos de sensibilidad preparados, uno de cada concentración con AE, y se colocaron en la superficie del agar sembrado con la cepa de *Haemophilus influenzae* ATCC 10211, de tal modo que quedaron los discos (uno de cada concentración) a un cm del borde de la Placa Petri y de forma equidistante.



Adicionalmente, se colocó el disco con Amoxicilina – ácido clavulánico (control positivo). Se dejaron en reposo por 15 min y después las placas se incubaron de forma invertida en la estufa a 35-37°C por 18-20 horas

6. Lectura e Interpretación

La lectura se realizó observando y midiendo con una regla Vernier, el diámetro de la zona de inhibición de crecimiento microbiano. Esta medición se realizó para cada una de las concentraciones de AE de la hoja de *Origanum vulgare* “orégano” y para la amoxicilina - ácido clavulánico. Se interpretó como sensible o resistente, según lo establecido en el Estándar M100 del CLSI



ANEXO 3

INTRUMENTO

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS PARA MEDIR EL TAMAÑO DE LOS HALOS DE INHIBICIÓN SOBRE CEPA DE *Haemophilus influenzae* ATCC 10211

HALO DE INHIBICIÓN (mm)						
Nº	Concentración del aceite esencial <i>Origanum vulgare</i>				Control positivo	Control negativo
	100%	75%	50%	25%	Amoxicilina / ácido clavulánico	Suero Fisiológico
Repetición 1	17	11	0	0	23	0
Repetición 2	17	12	0	0	23	0
Repetición 3	16	11	0	0	21	0
Repetición 4	18	12	0	0	23	0
Repetición 5	17	13	6	0	22	0
Repetición 6	18	12	7	0	23	0
Repetición 7	16	12	0	0	23	0
Repetición 8	17	12	0	0	23	0
Repetición 9	17	13	0	0	23	0
Repetición 10	18	12	6	0	21	0

ANEXO 4

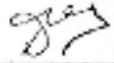
VALIDACIÓN DEL INSTRUMENTO

ÍTEM	CRITERIOS DE EVALUACIÓN DE LA VALIDEZ				CRITERIOS DE EVALUACIÓN DE LOS ASPECTOS ESPECÍFICOS							
	CONTENIDO (Se refiere al grado en que el instrumento refleja el contenido de la variable que se pretende medir)		CONSTRUCTO (Hasta donde el instrumento mide realmente la variable, y con cuánto eficacia lo hace)		RELEVANCIA (El ítem es esencial o importante, es decir, debe ser incluido)		COHERENCIA INTERNA (El ítem tiene relación lógica con la dimensión a la que el indicador que está midiendo)		CLARIDAD (El ítem se comprende fácilmente, es decir, sus sintácticos y semánticos son adecuados)		SUFICIENCIA (Los ítems que pertenecen a una misma dimensión bastan para obtener la dimensión de esta)	
	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO
1	✓		✓		✓		✓		✓		✓	
2	✓		✓		✓		✓		✓		✓	
3	✓		✓		✓		✓		✓		✓	

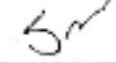
CRITERIOS DE EVALUACIÓN DE LOS ASPECTOS GENERALES				SI	NO	OBSERVACIÓN
El instrumento contiene instrucciones claras y precisas para responder la ficha de cotejos				✓		
Los ítems permiten el logro del objetivo de la investigación				✓		
Los ítems están distribuidos en forma lógica y secuencial				✓		
El número de ítems es suficiente para recoger la información. En caso de ser negativa la respuesta sugiera los ítems a añadir				✓		
VALIDEZ						
APLICABLE	✓	NO APLICABLE		APLICABLE TENIENDO EN CUENTA OBSERVACIÓN		

Instrumento validado por:


Teresa Penalta Cordova
BIÓLOGA-MICROBIOLOGA
CIP 1314


Firma y sello

Dra. Daila Nidia Ahumada Cabrera
MEDICINA INTERNA
C.I.P. 13141 - SUP. 3373
HOSPITAL VICTOR LAZARTE
EsSalud


Firma y sello

Roger Leon Jarama
CIP 23817 RNE. 19053
HOSPITAL VICTOR LAZARTE
EsSalud

ANEXO 5
COMPARACIONES MÚLTIPLES

HSD Tukey

(I) Concentraciones	(J) Concentraciones	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
100%	75%	5,100*	0,668	0,000	3,20	7,00
	50%	15,200*	0,668	0,000	13,30	17,10
	25%	17,100*	0,668	0,000	15,20	19,00
	amoxicilina-acido clavulanico	-5,400*	0,668	0,000	-7,30	-3,50
75%	100%	-5,100*	0,668	0,000	-7,00	-3,20
	50%	10,100*	0,668	0,000	8,20	12,00
	25%	12,000*	0,668	0,000	10,10	13,90
	amoxicilina-acido clavulanico	-10,500*	0,668	0,000	-12,40	-8,60
50%	100%	-15,200*	0,668	0,000	-17,10	-13,30
	75%	-10,100*	0,668	0,000	-12,00	-8,20
	25%	1,900*	0,668	0,049	,00	3,80
	amoxicilina-acido clavulanico	-20,600*	0,668	0,000	-22,50	-18,70
25%	100%	-17,100*	0,668	0,000	-19,00	-15,20
	75%	-12,000*	0,668	0,000	-13,90	-10,10
	50%	-1,900*	0,668	0,049	-3,80	,00
	amoxicilina-acido clavulanico	-22,500*	0,668	0,000	-24,40	-20,60
amoxicilina- acido clavulanico	100%	5,400*	0,668	0,000	3,50	7,30
	75%	10,500*	0,668	0,000	8,60	12,40
	50%	20,600*	0,668	0,000	18,70	22,50
	25%	22,500*	0,668	0,000	20,60	24,40

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.